

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

a. Morfologi *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang memiliki ukuran 0.5-0.8 mikron kali 1.5-3.0 mikron. Hampir semua strain bakteri ini adalah motil dengan satu flagel kutub (*single polar flagellum*). Ciri utamanya yaitu tidak dapat tumbuh di lingkungan tanpa oksigen. Media pertumbuhan bakteri tersebut terdiri dari asetat sebagai sumber karbon dan amonium sulfat sebagai sumber nitrogen. Suhu optimum pertumbuhan bakteri ini adalah 37⁰C, namun bakteri ini juga dapat tumbuh pada suhu 42⁰C. *Pseudomonas aeruginosa* memiliki daya tahan terhadap berbagai konsentrasi garam dan zat warnanya, antiseptik lemah dan berbagai jenis antibiotik (Soedarto, 2015).

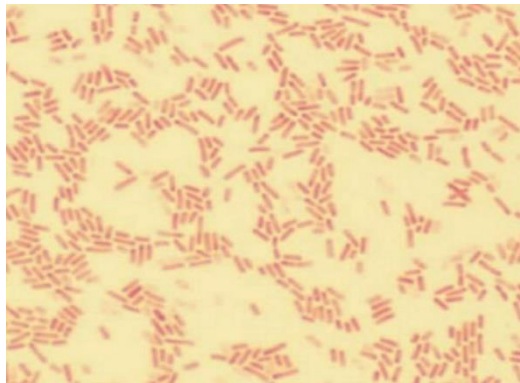
b. Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Menurut Siegrist (2010) klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma Proteobacteria
Ordo : Pseudomonadales
Familiae : Pseudomonadaceae
Genus : *Pseudomonas*
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

c. Identifikasi bakteri



Gambar 1. Morfologi Mikroskopis *Pseudomonas aeruginosa*.
Sumber : Brooks dkk., 2013.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif yang memiliki ukuran 0.5-0.8 mikron kali 1.5-3.0 mikron (Soedarto, 2015). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* bersifat obligat pada berbagai jenis media, memiliki bau manis seperti anggur atau seperti jagung. Koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berbentuk batang, halus dan fluresen berwarna kehijauan sering memproduksi pigmen berwarna kebiruan dan tidak fluresen atau disebut dengan piosianin (*pyocyanin*). Piosianin larut dalam media agar. Suhu optimal untuk pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 42°C. Suhu tersebut dapat membantu untuk

membedakan spesies *Pseudomonas* yang lain pada kelompok fluoresen yang bersifat oksidase positif. Bakteri ini memiliki beberapa galur menghasilkan pigmen fluoresen pioverdin yang menghasilkan warna kehijauan pada media agar. Beberapa galur menghasilkan pigmen merah gelap piorubin atau pigmen hitam piomelanin (Brooks dkk., 2005).

d. Toksin

Pseudomonas aeruginosa bersifat patogen apabila masuk ke daerah pertahanan normalnya. Jika bakteri tersebut masuk ke daerah punksi lumbal maka akan menyebabkan infeksi luka dan luka bakar yang membentuk nanah yang berwarna biru kehijauan, bahkan bakteri ini bisa menyebabkan meningitis. Apabila masuk ke dalam saluran kateter maka akan menyebabkan infeksi saluran kemih. Bakteri ini dapat menginfeksi jaringan kornea sehingga menyebabkan kebutaan. Infeksi lokal bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebar melalui darah dan menyebabkan septisemia dan lesi fokal pada jaringan (Brooks dkk., 2005).

Pseudomonas aeruginosa mampu memproduksi toksin dan enzim yang menyebabkan kematian bagi manusia. Lipid A yang terdapat pada bagian dinding sel bakteri adalah zat yang menyebabkan demam, vasodilatasi, inflamasi dan gejala lainnya. Exotoxin A dan Exoenzim S dapat menghambat sintesis protein eukariotik sel sehingga mengakibatkan kematian sel. Bakteri ini memproduksi enzim etalase yang memiliki efek hitotoksik dan mempermudah invasi organisme ini

ke pembuluh darah (Bauman, 2007).

e. Pengobatan

Pseudomonas aeruginosa menyebabkan infeksi pneumonia, bakteremia, otitis eksterna, infeksi ocular dan infeksi saluran kemih. Antibiotik β -laktam, kuinolon dan aminoglikosida adalah jenis antibiotik pilihan utama ketika terinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Gillespie dkk., 2007).

Jenis antibiotik yang digunakan pertama kali jika terinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu antipseudomonas dan golongan aminoglikosida seperti gentamisin, tobramysin danamikasin. Antibiotik alternatif adalah penisilin dikombinasi kuinolon, cefepime, ceftaxididime, imipenem, meropenem atau aztreonam dikombinasi dengan aminoglikosida (Katzung, 2007).

2. Lada hitam (*Piper nigrum* L.)

a. Taksonomi lada hitam

Kingdom	: Plantae
Kelas	: Equisetopsida
Sub kelas	: Magnolidae
Super ordo	: Magnolianae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: <i>Piper</i>
Spesies	: <i>Piper nigrum</i>

(Damanhoury dkk., 2014)

b. Morfologi tumbuhan

Morfologi tanaman lada hitam dari akar yang pendek yaitu akar adventif yang berhubungan dengan bagian disekitarnya sebagai pemasok nutrien.



Gambar 2. Lada Hitam.
Sumber: Vasavirama dkk. 2014.

Lada hitam (*Piper nigrum* L.) yang telah melewati tahap pengeringan banyak mengandung komponen bioaktif fitokimia (Kunnumakkara dkk., 2009). Pada penelitian terdahulu dari bubuk buah lada hitam (*Piper nigrum* L.) dengan ekstrak etanol diperoleh kandungan alkaloid, minyak esensial, fenol dan derivat tanin, karbohidrat, tipe protein yang diperoleh dari tahapan metabolit sekunder yang memiliki efek terapeutik (Kadam dkk., 2013). Piperin merupakan suatu senyawa alkaloid yang dihasilkan dari buah maupun akar dari *Piper nigrum* (Vasavirama dkk., 2014).

Deskripsi bagian tumbuhan lada hitam ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Deskripsi bagian tumbuhan lada hitam

Bagian tumbuhan	Deskripsi
Daun	Daun tunggal, ujung runcing, tepi rata, panjang 5-6 cm, lebar 2-5cm, tulang menyirip dan berwarna hijau.
Bunga	Bunga majemuk, bentuk bulir, menggantung, panjang dan berwarna hijau.
Buah	Buah buni, bulat, buah muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna merah.
Batang	Batang bulat, beruas, bercabang, mempunyai akar pekat dan berwarna hijau.

Sumber: Widyaningrum, 2019.

c. Kandungan kimia lada hitam

Kandungan lada hitam (*Piper nigrum* L.) yaitu karbohidrat, protein, tannin, fenol, kumarin, alkaloid dan antrakuinon. Senyawa alkaloid yang terkandung dalam lada hitam sebanyak 5-9% dan memiliki senyawa utama yaitu piperin, piperidin, piperetin dan piperenin (Kadam dkk., 2013). Kandungan piperin dalam lada hitam sebanyak (5,3-9,2%), kavisin (1%), metil prolin, minyak atsiri (1,2-3,5%), lemak (6,5-7,5%), pati (36-37%) dan serat kasar ($\pm 14\%$) (Kolhe dkk., 2009). Tumbuhan yang memiliki kandungan flavonoid dan tanin memiliki aktivitas antibakteri (Guyot dkk., 1999).

Lada hitam (*Piper nigrum* L.) memiliki kandungan piperin yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Pundir dan Pranay 2010; Al-shahwany, 2014). Semua senyawa

yang terkandung pada *Piper nigrum* yaitu piperin, pipene, piperamide dan piperamine yang memiliki aktivitas farmakologis (Ahmad dkk., 2012).

d. Manfaat lada hitam

Lada hitam (*Piper nigrum* L.) biasanya dimanfaatkan untuk mengatasi berbagai keluhan pada pencernaan, demam, obesitas dan keluhan pernafasan yang disebabkan oleh bakteri, virus maupun jamur (Ahmad dkk., 2012). Lada hitam (*Piper nigrum* L.) merupakan tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas lada hitam (*Piper nigrum* L.) dapat menghambat beberapa jenis bakteri seperti *Staphylococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* (Karsha dkk., 2009).

e. Mekanisme lada hitam sebagai antibakteri

Aktivitas antimikroba pada lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap *Listeria monocytogenes* dan *Salmonella typhimurium* menunjukkan bahwa keutuhan dinding sel dirusak. Substansi makromolekul masuk ke dinding sel untuk bereaksi dengan membran sel. Kandungan antibakteri yang terdapat pada lada hitam mampu merusak membran sel dengan membatasi aktivitas enzim dan mengubah permeabilitas yang mengakibatkan senyawa antimikroba masuk ke dinding sel bakteri (Chen dkk., 2019).

a) Flavonoid

Mekanisme kerja flavonoid untuk menghambat fungsi membran sel yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang terlarut sehingga memiliki kemampuan untuk merusak lapisan membran sel dengan diikuti keluarnya senyawa intraseluler (Nuria dkk., 2009). Senyawa ini dapat menghambat proses metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri.

Selain itu, senyawa ini juga dapat menghambat reduktase sitokrom C sehingga menyebabkan proses pembentukan metabolisme terganggu. Bakteri membutuhkan energi untuk proses biosintesis makromolekul (Cushnie, 2005). Flavonoid juga dapat menginaktivasi adhesi protein, enzim dan membran sitoplasma pada sel bakteri (Kumar dkk., 2013)

b) Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa yang memiliki sifat sebagai pengelat dan memberi efek spasmolitik. Efek spasmolitik dapat membuat membran sel atau dinding sel mengerut sehingga menghambat aktivitas sel tersebut. Akibat terhambatnya permeabilitas, sel tidak mampu untuk melakukan aktivitas hidup sehingga menghambat pertumbuhannya atau bahkan mati. Antibakteri tanin memberikan efek antara lain melalui reaksi dengan

membran sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik. Senyawa tanin diduga memiliki kemampuan untuk menginaktivasi adhesin mikroba, enzim dan transport protein pada membran sel (Naim, 2004).

c) Alkaloid

Alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, maka pembentukan dinding sel tidak utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut. Senyawa alkaloid memiliki gugus basa yang memiliki kandungan nitrogen, sehingga dapat bereaksi dengan asam amino penyusun dinding sel dan DNA bakteri. Reaksi tersebut menyebabkan terjadinya perubahan struktur serta susunan asam amino. Oleh karena itu, menyebabkan perubahan keseimbangan genetik rantai DNA. Sel yang rusak akan mendorong terjadinya lisis bakteri dan kematian sel bakteri (Arista dkk., 2013).

d) Antrakuinon

Antrakuinon memiliki peranan sebagai antibakteri. Zat yang terdapat dalam lada hitam tersebut merupakan hasil persenyawaan fenolik, sehingga memiliki mekanisme kerja mirip dengan senyawa fenol yaitu dapat menghambat bakteri dengan mendenaturasi protein, mengubah morfologi sel, merusak struktur luar bakteri, pembentukan kompleks ireversibel dengan asam amino sehingga menyebabkan inaktivasi protein (Fitri, 2005).

e) Piperin

Senyawa utama dalam lada hitam yaitu piperin yang memiliki berbagai aktivitas farmakologi yaitu sebagai antioksidan, antiinflamatori, antidepresan, karminatif, analgesik, antitiroid, antihipertensi, antitumor, antiastma, antikolesterol, antidiabetes, hepatoprotektif, antiartritik, antimikobakterial dan meningkatkan fertilitas (Singh dkk., 2009).

3. Minyak atsiri

a. Pengertian minyak atsiri

Minyak atsiri merupakan senyawa organik dari suatu tanaman yang cara memperolehnya harus melalui tahapan ekstraksi terlebih dahulu. Tidak semua tanaman memiliki kandungan minyak atsiri. Minyak atsiri memiliki sifat yang mudah menguap. Ada beberapa tumbuhan penghasil minyak atsiri diantaranya dari famili *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Myristicaceae*, *Astereaceae*, *Apocynaceae*, *Umbeliferae*, *Pinaceae* dan *Laibateae* (Emelda, 2019).

Minyak atsiri diperoleh karena adanya reaksi antara senyawa kimia dan air. Minyak atsiri tergolong produk metabolit sekunder yang merupakan pertahanan tanaman terhadap suatu mikroorganisme. Selain mudah menguap, minyak atsiri juga memiliki sifat *pungent taste* atau memiliki rasa yang menyengat (Emelda, 2019).

b. Manfaat minyak atsiri

Selain digunakan untuk relaksasi, minyak atsiri juga dimanfaatkan sebagai penawar penyakit dan digunakan sebagai pendamping dari pengobatan. Minyak atsiri yang dimanfaatkan sebagai obat biasanya digunakan dengan cara dioles, diencerkan dengan minyak zaitun atau minyak kelapa dan dihirup aromanya (Emelda, 2019).

4. Antibakteri

a. Pengertian antibakteri

Antibakteri adalah senyawa organik yang dapat merusak dan menghambat bakteri tertentu baik secara alami maupun sintetik. Zat antibakteri adalah bahan yang digunakan untuk menghambat bakteri yang merugikan bagi manusia (Brooks dkk., 2005).

b. Mekanisme kerja antibakteri

Menurut Radji (2011) berdasarkan mekanisme kerjanya dalam menghambat bakteri, antibakteri digolongkan sebagai berikut :

1) Antibakteri yang dapat menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel pada bakteri merupakan bagian yang berfungsi untuk mempertahankan struktur sel bakteri. Zat antimikroba yang masuk ke dalam bakteri umumnya akan melisiskan dan merusak dinding sel bakteri terlebih dahulu. Setelah bentuk dan struktur selnya mengalami kerusakan, maka zat antimikroba akan membunuh sel bakteri tersebut.

2) Antibakteri yang dapat merusak membran sel

Membran sel pada bakteri berfungsi untuk mengangkut nutrisi dan metabolit agar dapat keluar masuk sel. Selain itu, membran sel juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan terjadinya aktivitas biosintesis dalam sel. Beberapa jenis antibakteri dapat melisiskan dan merusak membran sel, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri.

3) Antibakteri yang dapat mengganggu biosintesis asam nukleat

Antibakteri dapat menghambat proses yang dikatalisis oleh enzim menjadi produk yang lebih kompleks dalam suatu organisme hidup.

4) Antibakteri yang dapat menghambat sintesis protein

Beberapa jenis antibakteri dapat menghambat sintesis protein. Proses sintesis protein terdiri dari 2 macam, yaitu transkripsi (DNA ditranskripsi menjadi mRNA) dan translasi (mRNA ditranslasi menjadi protein).

c. Uji sensitivitas

1) Metode dilusi

Metode dilusi terdiri dari 2 jenis media yaitu media cair dan padat. Uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi terlebih dahulu melakukan pengenceran agen antibakteri dengan konsentrasi yang menurun. Kemudian masing-masing media yang mengandung

konsentrasi agen antimikroba diinokulasikan bakteri uji dan diinkubasi. Uji sensitivitas dengan metode dilusi agar membutuhkan waktu yang relatif lama dan penggunaannya dibatasi pada kadar tertentu (Brooks dkk., 2005). Uji sensitivitas dengan metode dilusi cair memiliki prinsip yaitu untuk melakukan pengukuran Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) suatu agen antibakteri. Larutan antibakteri yang telah diinokulasi dengan bakteri, namun tetap jernih menandakan sebagai kadar hambat minimum suatu agen antibakteri. Kadar bunuh minimum ditetapkan setelah kadar hambat minimum dilakukan kultur. Kadar bunuh minimum ditetapkan jika pada media tersebut tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri setelah dilakukan inkubasi tanpa agen antibakteri (Pratiwi, 2008).

2) Metode difusi

Metode ini merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan dalam penelitian. Cakram kertas saring yang mengandung antimikroba diletakkan di atas media agar yang telah diinokulasikan oleh bakteri pada permukaannya. Setelah itu, diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu yang disesuaikan dengan jenis bakteri. Kemudian mengukur diameter zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya area jernih di sekitar *disc* yang mengandung antimikroba (Brooks dkk., 2005).

Metode difusi agar dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu :

a) Cara *kirby bauer*

Suspensi bakteri yang telah dilakukan inkubasi selama 18-24 jam dengan kekeruhan 10^8 CFU (*Colony Forming Unit*) per ml yang telah dilakukan inokulasi pada media agar kemudian bagian atasnya diletakkan *disc* yang mengandung antibakteri dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan dilakukan pengamatan mengenai zona hambat yang terbentuk akibat adanya zat antibakteri tersebut.

b) Cara sumuran

Metode difusi dengan cara sumuran memiliki kesamaan dengan cara *kirby bauer*. Perbedaannya terletak pada media agar dibuat sumuran dengan diameter tertentu dan di dalam sumuran tersebut diberi zat antibakteri, diinkubasikan dan hasilnya dibaca seperti metode *kirby bauer* (Brooks dkk., 2005).

Pada metode difusi dikenal pengertian :

- a) Zona radikal merupakan suatu daerah di sekitar *disc* atau sumuran, dimana sama sekali tidak ada pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter antibakteri yang terbentuk di sekitar zona tersebut.

- b) Zona irradikal merupakan suatu daerah dimana pertumbuhan bakteri tidak dihambat dan tidak dimatikan oleh antibiotik sehingga masih ditemukan adanya pertumbuhan bakteri (Brooks dkk., 2005). Pengelompokan kriteria kekuatan antibakteri oleh Davis dan Stout terhadap diameter zona hambat ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kriteria Kekuatan Antibakteri terhadap Diameter Zona Hambat

Diameter Zona Hambat	Kriteria Kekuatan
<5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat Kuat

Sumber : Davis dan Stout (1971) dalam Utomo, dkk (2018).

Tingkat sensitivitas zat antibakteri diklasifikasikan berdasarkan klasifikasi respon hambatan menurut Cahyono dkk (2012) ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi Respon Hambatan

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
>20 mm	Kuat (Sensitif)
16-20 mm	Sedang (Intermediet)
10-15 mm	Lemah (Resistensi)
0 mm	Tidak Ada

Sumber : Cahyono dkk (2012).

Untuk mengetahui tingkat keefektifan dari zat antibakteri yang digunakan, maka dilakukan penggolongan berdasarkan tingkat efektivitas yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Tingkat Efektivitas

Persentase (%)	Kriteria
>100%	Sangat Efektif
90%-100%	Efektif
80%-90%	Cukup Efektif
60%-80%	Kurang Efektif
<60%	Tidak Efektif

Sumber : Depdagri, Kepmendagri No. 690.900.327

d. Faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba

Menurut Brooks dkk (2005), adapun faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba yaitu :

1) pH lingkungan

Beberapa antimikroba lebih aktif pada pH asam (nitrofurantoin) dan yang lainnya aktif pada pH alkali (aminoglikosida, sulfonamid).

2) Komponen media

Perubahan komponen media perkembangan akan mempengaruhi sifat media. Hal ini akan mempengaruhi aktivitas antimikroba untuk menghambat suatu bakteri.

3) Stabilitas obat

Pada suhu tertentu, beberapa jenis antimikroba kehilangan kemampuan untuk menghambat bakteri. Klortetrasiklin tidak dapat menghambat dengan cepat setelah diinkubasi klortetrasiklin mengalami inaktif. Penisilin dapat menghambat bakteri tetapi sangat lambat. Antibiotik jenis kloramfenikol, siprofloksasin dan amino glikosida cukup stabil dalam jangka waktu yang panjang.

4) Ukuran inokulum

Ukuran inokulum sangat berpengaruh terhadap tingkat sensitivitas dikarenakan semakin besar ukuran inokulum maka semakin menurun tingkat kepekaan mikroba. Apabila menggunakan ukuran inokulum yang besar maka jumlah populasi bakteri semakin banyak, maka semakin sulit dihambat oleh zat antimikroba.

5) Waktu inkubasi

Waktu inkubasi adalah salah satu faktor penting yang dapat mempengaruhi tingkat sensitivitas antimikroba. Semakin lama waktu inkubasi, maka memberi kesempatan untuk membentuk mikroba yang resisten jika dipaparkan dengan antimikroba, sehingga semakin menurun tingkat sensitivitas antimikroba terhadap suatu bakteri. Kebanyakan bakteri mengalami pertumbuhan dengan baik setelah diinkubasi selama 24 jam.

6) Aktivitas metabolik mikroorganisme

Mikroba yang mengalami pertumbuhan dengan cepat dan aktif biasanya lebih sensitif terhadap efek dari obat dibandingkan dengan mikroba yang berada dalam fase istirahat. Mikroba yang inaktif pada fase metabolik dapat bertahan hidup ketika terpapar obat dalam jangka waktu yang relatif lama sehingga memungkinkan untuk menghasilkan keturunan yang bersifat resisten terhadap obat.

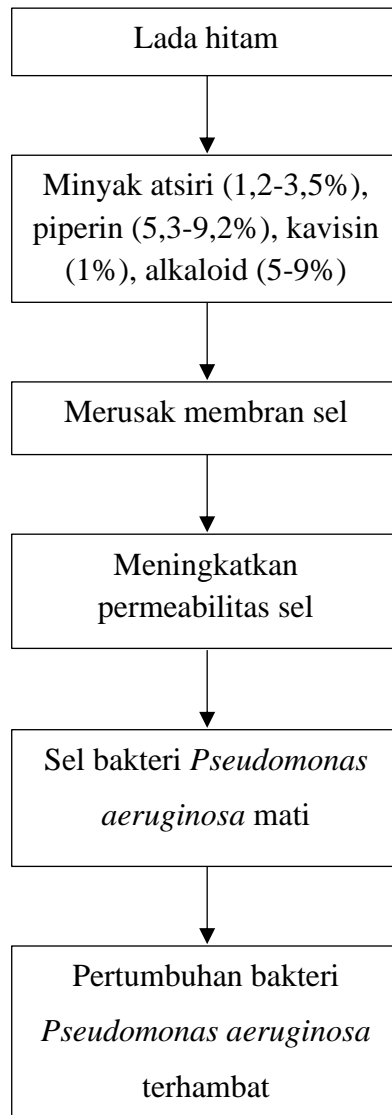
7) Suhu inkubasi

Bakteri akan mengalami pertumbuhan secara optimal pada suhu inkubasi yang sesuai dengan jenis bakterinya. Suhu yang sering digunakan untuk melakukan inkubasi adalah 37⁰C.

5. Kloramfenikol

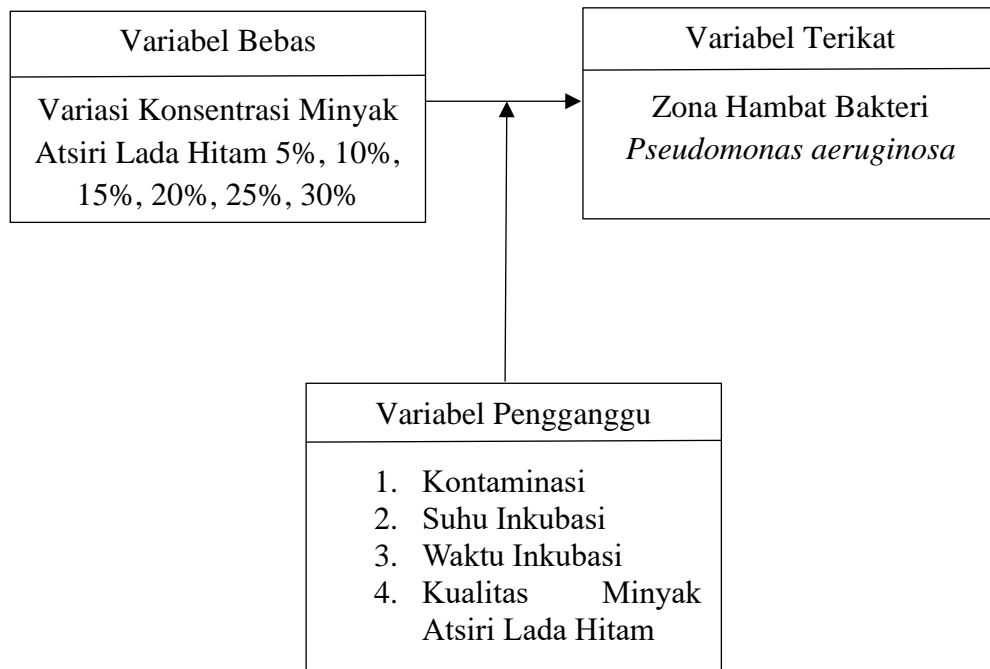
Kloramfenikol adalah jenis antibiotik yang sering disebut sebagai *dichloroasetamide*, *amphicol*, *anacetin*, *fenicol*, *cloramicol*, *cloromycetin* dan *kemicetine*. Antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat sintesis protein. Kloramfenikol termasuk jenis antibiotik yang berspektrum luas karena dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif baik aerob maupun anaerob. Efek samping yang ditimbulkan oleh kloramfenikol antara lain anemia aplastik, granulositopenia, trombositopenia, gangguan saluran cerna dan reaksi hipersensitivitas. Oleh karena itu, kloramfenikol tidak dianjurkan digunakan untuk pengobatan infeksi influenza, infeksi kerongkongan atau untuk pencegahan infeksi (Andryssha, 2011).

B. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



Gambar 4. Kerangka Konsep

D. Pertanyaan Penelitian

“Bagaimana gambaran sensitivitas minyak atsiri lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*”